

氏名	伊 藤 洋次郎		
学位(専攻分野)	博 士(理 学)		
学位授与番号	博 甲 第 1089 号		
学位授与の日付	平成 4 年 9 月 30 日		
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文題目	The gene encoding murine serum amyloid P-component and its expression between inbred strains of mice マウス血清アミロイドP成分遺伝子と近交系マウスにおけるその 発現		
論文審査委員	教授 小林 靖夫	教授 山口 恒夫	教授 香川 弘昭
	教授 田中 基之	教授 佐藤亮太郎	

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

血清アミロイドP成分 (SAP) は、マウスの代表的な急性期蛋白である。本研究では、このSAPが定常時蛋白濃度に系統差が見られる事に着目し、その遺伝子マッピングと mRNA及び遺伝子構造の解析を通して、SAP遺伝子の発現調節機構を解明することを目的とした。

SAP蛋白現量の異なる系統のマウス染色体DNAサザンプロット解析の結果、SAP遺伝子は1コピーであり、少なくとも3種類のRFLPの存在が確認された。さらに、SAP高産生系のDBA/2と低産生系のC57BL/6との間で交配されたリコンビナント近交系マウスのRFLPとSAP蛋白発現量に相関が認められたことから、マウスSAP蛋白の発現量の系統差を規定する遺伝的要因は、SAP構造遺伝子そのものまたはその近傍にある事が明かとなった。また、SAP遺伝子のRFLPを指標とした組替え率の検定から、SAP構造遺伝子は第1染色体上のLy-9遺伝子のごく近傍にあると考えられた。次に、定常時SAP蛋白量の異なる系統のマウスについてRNAase protection解析を行った結果、その蛋白量とmRNAが符合した事、高産生系と低産生系のF1マウス (BDF1) でmRNAが低産生系と一致した事、定常時と誘導時及び系統間にかかわらず同一部位から転写が開始されている事が判明した。以上と系統間でmRNAの大きさに差がないことから、SAP蛋白のマウス系統差は、SAP遺伝子の転写活性の変化によるもので、定常時転写レベルが低い方が優性である事が示された。その転写活性の変化がSAP遺伝子の変異に起因している可能性を調べるため、定常

時転写レベルの異なる2系統、DBA/2（高産生系）及びC57BL/6（低産生系）のSAP遺伝子をクローニングし比較を行ったが、SAP遺伝子及びその5'上流には大きな遺伝子欠損や挿入はみられず、1から4bpの塩基置換、塩基挿入、塩基欠損はみられたが、機能に影響を与えるものではなかった。なお、肝特異的発現に関与すると思われるプロモーター領域はよく保存されていた。

以上の結果から、マウス系統間でみられるSAP蛋白の発現量の差異は、第1染色体上のSAP遺伝子またはその近傍の変異によって、SAP遺伝子の転写活性が変化した結果であり、さらに系統差のあるマウス間でその構造遺伝子がよく保存されていた事、BDF1マウスのSAPmRNA量が中間的値ではなく低産生系と同程度であった事より、SAP遺伝子の発現には抑制的に働くトランス因子が存在し、SAP遺伝子の近傍にコードされていて、その遺伝子の変異が系統間の発現量の差を引き起こしているものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

ヒトアミロイドーシス（類デンプン症）は難治性の疾患である。アミロイド沈着に関与する血清アミロイドP成分（SAP）は、マウスでは代表的急性期蛋白として知られる。さらに、その定常レベルは、マウスの系統によって差異がみられる。本研究では、マウス系統間SAP蛋白の発現量の相違が何に起因するのかを調べ、この遺伝子の発現調節機構を解析することを目的とし、次のような結果を得た。

### I. マウス血清アミロイドP成分（SAP）構造遺伝子の染色体部位決定。

マウスに於いて、1)SAP遺伝子は1コピーであった。2)SAP遺伝子には3種類の多型（RFLP）が存在した。3)SAP遺伝子の多型とSAP蛋白発現量とは相関があった。4)SAP構造遺伝子は第一染色体上のLy-9遺伝子から0～2.4センチモルガンの距離にあることが示された。

### II. マウス系統間でのSAP遺伝子の転写活性、mRNAの解析。

SAP蛋白高産生系DBA/2マウスと低産生系C57BL/6マウスに於いて、1)定常時のSAP蛋白発現量はSAPmRNA量と相関していた。2)F1では、mRNAは低産生系と同程度であり、転写レベルの低い方が優性であった。3)転写開始部位に違いはなかった。4)mRNAの大きさに差はみられなかった。

### III. SAP蛋白発現量の異なる2系統のSAP遺伝子の塩基配列の比較。

上記2系統マウスのSAP遺伝子に於いて、1)エクソン、イントロン部位で8箇所の1塩基置換、2)5'上流およそ1kbの領域には、22箇所の1塩基置換、2箇所の2塩基置換、4箇所の1塩基挿入、3箇所の3-4塩基欠損がみられた。3)転写開始部位から上流のプロモーター領域には変異がみられなかった。

以上の結果から、SAP蛋白発現量の2系統間の差異は、SAP遺伝子の転写活性の変化

によることが明らかになった。この転写活性の変化の原因がSAP遺伝子の僅かな塩基置換、挿入、欠損によるか否かは今後の課題である。しかし、転写レベルの低い方が優性であることから、SAP遺伝子の発現には、抑制的に働く因子が存在し、その因子の変異が系統間の発現量の違いを引き起こしていることが考えられる。

以上の研究成果は、マウス血清アミロイドP成分の定常レベルの系統間相違について新たな知見を提供し、今後ヒトアミロイドーシスの病因論と治療の発展に寄与することが期待される。学位論文、論文発表、参考論文を総合的に判断した結果、博士学位論文に値するものと認定する。